RÉSUMÉ DE THÈSE

Rôle de l'osmolalité dans la régulation de la mobilité des spermatozoïdes de carpe (*Cyprinus carpio*) et de turbot (*Scophthalmus maximus*): étude énergétique, cinétique, morphologique et échanges transmembranaires impliqués dans l'activation des spermatozoïdes, par **Ghislaine Perchec**, Laboratoire d'Ichtyologie Générale et Appliquée, Muséum National d'Histoire Naturelle, 43, rue Cuvier, 75005 Paris, FRANCE.

Thèse de Doctorat d'Etat, Mention Sciences Biologiques, Université Rennes I, 1996, 279 p., 4 tabs, 30 figs, 175 réfs.

Les spermatozoïdes de carpe et de turbot constituent des modèles originaux d'activation de la mobilité: ils sont immobiles dans le plasma séminal et sont activés par un choc, respectivement, hypo- ou hyperosmotique au contact de l'eau douce (carpe) ou de l'eau de mer (turbot) lors de la fécondation.

Les paramètres de nage (vitesse de déplacement, fréquence de battement flagellaire) et la réserve en ATP des spermatozoïdes de carpe sont très variables suivant les échantillons. Lors des prélèvements de sperme, la contamination des échantillons avec de l'urine, d'osmolalité et de densité plus faible que le sperme, déclenche l'activation d'un nombre croissant de spermatozoïdes situés à la surface du tube de prélèvement et un abaissement précoce de l'ATP intracellulaire. L'utilisation d'un cathéter placé dans l'urètre permet de collecter le sperme et l'urine séparément, ce qui évite la contamination et les cellules gardent intacte leur potentialité de mouvement.

La durée de la mobilité des spermatozoïdes de carpe et de turbot est brève, dans des solutions salines activatrices du mouvement. La diminution des paramètres de nage est due à l'hydrolyse rapide de l'ATP intracellulaire. Ce phénomène est réversible chez la carpe et une augmentation de l'osmolalité du milieu rétablit le niveau d'ATP intracellulaire permettant une deuxième phase de nage. L'ATP disponible pour la mobilité des spermatozoïdes de carpe, provient de la réserve synthétisée avant mouvement, de la réserve potentielle que constitue la créatine phosphate et du catabolisme de sucres endogènes. Cependant, la faible capacité oxydative des mitochondries limite la synthèse d'ATP qui est insuffisante pour entretenir une fréquence de battements flagellaires élevée.

Le choc hypo-osmotique entraîne des modifications ultrastructurales importantes, allant jusqu'à la rupture de la membrane plasmique. Nous avons observé que l'activation des spermatozoïdes de carpe dans l'eau distillée entraîne un gonflement cellulaire qui résulte d'un influx d'eau extracellulaire. Ce gonflement diminue fortement la durée de mobilité, par une altération du métabolisme (dilution du milieu intérieur par exemple) et la formation d'un enroulement de l'axonème sur lui-même ou boucle flagellaire.

L'osmolalité du milieu extracellulaire a un rôle primordial dans la régulation du battement flagellaire des spermatozoïdes de carpe. L'activation du mouvement précède le gonflement des spermatozoïdes qui est progressif, ce qui semble exclure la dilution d'un facteur intracellulaire initiateur du mouvement. Les échanges ioniques trans-membranaires ne semblent pas être directement impliqués dans la transduction du signal d'activation de la mobilité. Le potassium semble toutefois être un ion important pour la perception du signal osmotique. L'hypothèse de l'existence d'un récepteur membranaire de l'osmolalité de type "Stretch-Activated channels" ou canaux ouverts par la tension est proposée.

Summary. - Role of osmolality in motility regulation of carp (*Cyprinus carpio*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) spermatozoa: energetics, kinetics, ultrastructural studies and transmembrane exchanges implied in spermatozoa motility activation.

Carp and turbot spermatozoa offer original models: they are immotile in the seminal plasma and are activated by an hypo- or hyperosmotic shock respectively, after suspension in freshwater (carp) or sea water (turbot) at fertilization.

Motility parameters (velocity, flagellum beat frequency) of carp spermatozoa and ATP content are very variable. During stripping, the contamination of samples by urine with lower osmolality and density than sperm, activate spermatozoa near the top of the test tube. A catheter introduced in the urethra avoids milt contamination and cells keep intact their potentiality for movement.

The duration of carp and turbot spermatozoa motility is short in activating saline solutions. The decrease of motility parameters is due to the high hydrolysis rate of intracellular ATP. This is a reversible phenomenon and increasing osmolality surrounding spermatozoa induces regeneration of the intracellular ATP store. Available ATP for carp spermatozoa motility comes from intracellular store synthesized before movement, from the potential reserve of creatin phosphate and from sugars catabolism. However, the poor capacity of mitochondria for oxidative phosphorylation limits the ATP synthesis required to sustain high flagellum beating.

The hypo-osmotic shock induces ultrastructural modifications till the plasma membrane disruption. Activation of carp spermatozoa in distilled water induces a cell swelling which is due to an entry of extracellular water. This swelling strongly decreases the duration of motility, by both an alteration of the metabolism (dilution of the intracellular medium) and the curling of the flagellum.

Extracellular osmolality plays an essential role in the flagellum beating regulation of carp spermatozoa. Activation of movement precedes the swelling of spermatozoa which is a progressive phenomenon and seems to exclude the dilution of an intracellular factor initiating motility. The transmembrane ionic exchanges do not seem to be directly involved. However, potassium seems to be important for the osmotic signal perception. The existence of an osmolality-sensitive membrane receptor like a Stretch-Activated channels is discussed.

Key-words. - Cyprinidae, *Cyprinus carpio*, Scophthalmidae, *Scophthalmus maximus*, Spermatozoa, Motility, Osmolality, Energetics, Activating signal.